

学校编码: 10384  
学号: 200226064

分类号 \_\_\_\_\_ 密级 \_\_\_\_\_  
UDC \_\_\_\_\_

厦 门 大 学  
硕 士 学 位 论 文

用酵母双杂交系统筛选与 APP/AID 相互  
作用蛋白的初步研究

A Study of APP/AID and Interacting Protein by Yeast  
Two-Hybrid

作者姓名: 周芳芳

指导教师姓名: 许华曦 教授

专 业 名 称: 细胞生物学

论文提交日期: 2005 年 6 月

论文答辩时间: 2005 年 6 月 30 日

学位授予日期: 2005 年 月 日

答辩委员会主席: \_\_\_\_\_

评 阅 人: \_\_\_\_\_

2005 年 6 月

## 厦门大学学位论文原创性声明

兹呈交的学位论文，是本人在导师指导下独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考的其他个人或集体的研究成果，均在文中以明确方式标明。本人依法享有和承担由此论文而产生的权利和责任。

声明人（签名）：

年 月 日

## 摘 要

淀粉样前体蛋白 APP (Amyloid precursor protein) 是 I 型跨膜蛋白, 它可以被  $\alpha$ 、 $\beta$  和  $\gamma$  三种分泌酶切割, 产生可溶性的 N 端片断 sAPP,  $\beta$  淀粉样蛋白 A $\beta$  和胞内端 AID (APP intracellular domain)。AID 是 APP 由  $\gamma$  分泌酶切割产生的胞内端, 它可能参与细胞凋亡, 基因转录, 信号转导等活动, 但 AID 的确切功能并不清楚, 它可能对阿尔海默氏症的形成有一定影响。为进一步研究 AID 的功能, 在本实验中, 我们用 AID 作为诱饵蛋白, 运用酵母双杂交系统筛选能够与其结合蛋白, 得到几个阳性克隆, 并选取其中两个蛋白 RPS21, FLJ20551 构建全长进一步研究。首先我们在酵母体系中用  $\beta$ -半乳糖苷酶报告基因证实了它们的片断及全长与 AID 之间的相互作用。其次我们在哺乳动物细胞 293T 中用免疫印迹的方法检测了蛋白的正常表达。通过免疫荧光的方法显示, RPS21 蛋白呈点状分布在核内, 而 FLJ20551 蛋白则主要分布于细胞质中, 在核内也有少量分布。然后用免疫共沉淀的方法, 我们检测到了 RPS21 与 AID 之间, FLJ20551 与外转的 APP695 之间的相互作用。用检测报告基因的方法, 我们发现 FLJ20551 可以抑制 Fe65 介导的 AID 的转录激活作用以及 GAL4-Luc 本底水平的转录抑制。延伸到 TGF- $\beta$  信号通路, 我们发现在 HPL-1 细胞中, FLJ20551 可以抑制 TGF- $\beta$  介导的 CAGA-Luc 报告基因的转录。可能通过此相互作用影响或介导 AID 的正常功能。

我们的研究鉴定了两个新的 AID 结合蛋白 RPS21 和 FLJ20551, 它们可能在介导 APP/AID 在生理和病理过程包括 AD 的发病过程中起了新的作用。特别有意义的是我们第一次发现了 FLJ20551 在调节转录激活和 TGF- $\beta$  通路中的潜在作用, 这对我们研究 APP/AID 的功能以及今后对 AD 这一破坏性疾病的新的研究进展有指导意义。

**关键词：**酵母双杂交； $\beta$ —半乳糖苷酶； $\gamma$ 分泌酶

厦门大学博硕士论文摘要库

## Abstract

Amyloid precursor protein (APP), a key protein in pathogenesis of Alzheimer's Disease (AD), is a type I transmembrane protein which can be cleaved by  $\beta$ - and  $\gamma$ -secretase to release the amyloidogenic  $\beta$ -amyloid peptides and the APP intracellular domain (AID). While  $A\beta$  has been widely believed to initiate pathogenic cascades culminating AD, the physiological functions of AID remain elusive.

To study the function of AID, we attempted to identify its interacting proteins by Yeast Two-Hybrid screening using AID as the bait. Among many positive clones identified, we chose to proceed to further characterization of two interest candidates: the sequence of the first clone matches with a known protein ribosomal protein S21 (RPS21); the other corresponds to a fragment of a novel protein FLJ20551 with unknown functions. The specific interaction between both the fragments and the full-length of the candidates and AID was confirmed by using the  $\beta$ -galactosidase reporter assay. Furthermore, we demonstrated the successful expression of the two clones and verified the interaction between RPS21 and AID in mammalian 293T cells. Co-immunoprecipitation approach interaction between FLJ20551 and exogenously expressed APP was observed. In addition, using immunofluorescence approach we showed that RPS21 is localized in the nucleus whereas FLJ20551 is localized in both the nucleus and the cytoplasm, in HeLa cells. Further, we demonstrated that FLJ20551 inhibits the transcriptional activation mediated Fe65, a well characterized AID binding protein, as well as the basal transcriptional activation in GAL4 reporter systems in mammalian 293T and HeLa cells. The potential biological functions of FLJ20551 can be extended to the TGF- $\beta$  signal pathway as our data demonstrated that FLJ20551 is able to inhibit TGF- $\beta$  mediated gene expression events using CAGA-Luc reporter in HPL-1 cells.

Our study identified two new AID binding proteins, RPS21, FLJ20551

and may assign novel roles for the two proteins in mediating APP/AID functions in physiological and pathological processes including AD pathogenesis. Of particular interest, the potential functions of FLJ20551 in regulating transcriptional activation events and the TGF- $\beta$  signaling pathway were revealed for the first time, which may be instrumental of our understanding of the function of APP/AID as well as for future development of novel invention for this devastating disease.

**Key words:** Yeast Two-Hybrid;  $\beta$ -galactosidase;  $\gamma$ -secretase

# 目 录

中文摘要 .....	I
英文摘要 .....	II
第一章 前言 .....	1
一、影响 AD 的几种重要因素 .....	1
(一) 载脂蛋白 E(ApoE) .....	1
(二) 淀粉样前体蛋白 APP .....	2
(三) Tau 蛋白 .....	3
(四) $\beta$ 淀粉样蛋白-A $\beta$ .....	3
(五) 影响 APP 切割的三种分泌酶 .....	5
(六) APP 的胞内端 AICD .....	8
二、AD 的治疗 .....	9
(一) 分泌酶抑制剂 .....	9
(二) A $\beta$ 疫苗 .....	9
(三) 金属螯合剂 .....	10
(四) 非类固醇抗炎药物(NSAIDs) .....	10
(五) 抗氧化剂 .....	11
(六) 雌激素 .....	11
(七) 降低胆固醇 .....	11
三、本论文的研究目的及内容 .....	12
第二章 实验材料与方法 .....	13
一、材料 .....	13
1. 主要材料与试剂 .....	13
2. 溶液配制 .....	13
3. 主要实验设备 .....	16
二、实验方法 .....	17
1. 质粒的构建和表达 .....	17
2. 酵母双杂交的原理及操作方法 .....	19
3. 大肠杆菌转化 .....	22
4. 质粒的少量提取 .....	23

5. 质粒的大量纯化 .....	23
6. 细胞培养 .....	24
7. 磷酸钙转染 .....	24
8. 免疫印迹 .....	25
9. 免疫共沉淀 .....	25
10. 报告基因检测 .....	26
11. 免疫荧光 .....	27
12. GST 融合蛋白的诱导 .....	28
13. GST 融合蛋白的纯化 .....	28
<b>第三章 实验结果及分析</b> .....	<b>30</b>
1. 诱饵质粒的构建和自激活的检测 .....	30
2. 酵母双杂交筛选 .....	30
3. 测序结果分析 .....	30
4. RPS21与FLJ20551的蛋白序列分析 .....	33
5. RPS21和FLJ20551基因全长的克隆 .....	35
6. $\beta$ -半乳糖苷酶活性定量分析 .....	36
7. 蛋白表达结果 .....	38
8. 蛋白定位结果 .....	39
9. 免疫共沉淀结果 .....	40
10. 报告基因检测 .....	42
11. FLJ20551与Fe65的关系 .....	45
12. FLJ20551与TGF- $\beta$ 信号通路的关系 .....	46
13. GST-FLJ20551融合蛋白的纯化 .....	47
<b>第四章 结论</b> .....	<b>49</b>
<b>第五章 讨论</b> .....	<b>50</b>
<b>参考文献</b> .....	<b>51</b>
<b>致谢</b> .....	<b>65</b>



## Catalogue

<b>Abstract</b>	I
<b>Chapter 1 Foreword</b>	1
<b>1. Factors influence AD</b>	1
1.1 ApoE	1
1.2 APP	2
1.3 Tau protein	3
1.4 A $\beta$	3
1.5 Secrete enzyme and APP	5
1.6 APP and AID	8
<b>2. Cure for AD</b>	9
2.1 Inhibitor for secrete enzyme	9
2.2 A $\beta$ bacterin	9
2.3 Chelation	10
2.4 NSAIDs	10
2.5 Antioxidant	11
2.6 Estrogen	11
2.7 Cholesterin	11
<b>3. Purpose and content</b>	12
<b>Chapter 2 Material and Method</b>	13
<b>1. Material and method</b>	13
1.1 Material	13
1.1.1 Reagent	13
1.1.2 Buffer	16
1.1.2 Equipment	17
<b>2. Method</b>	17
2.1 Constructs and expressions	17
2.2 Yeast two hybrid	19

2.3 Transformation .....	22
2.4 Plasmid mini preparation .....	23
2.5 Plasmid max preparation .....	23
2.6 Culture cell .....	24
2.7 Transfection .....	24
2.8 Western blotting .....	25
2.9 Immunoprecipitation .....	25
2.10 Report Essay .....	26
2.11 Immunofluorescence .....	27
2.12 GST fusion protein expression .....	28
2.13 GST fusion protein purification .....	28
<b>Chapter 3 Result and analysis</b> .....	30
1. Constructs of bait and examination of autoactivation .....	30
2. Screen with Yeast Two-Hybrid .....	30
3. Analysis of sequence results .....	30
4. Analysis of RPS21 and FLJ20551 protein sequence .....	33
5. Constructs of RPS21 and FLJ20551 full length .....	35
6. Analysis of $\beta$ -gal .....	36
7. Results of expression .....	38
8. Localization of protein .....	39
9. Results of immunoprecipitation .....	40
10. Report assay .....	42
11. Relationship between FLJ20551 and Fe65 .....	45
12. Relationship between FLJ20551 and TGF- $\beta$ signal pathway .....	46
13. Purification of GST-FLJ20551 fusion protein .....	47
<b>Chapter 4 conclusion</b> .....	49
<b>Chapter 5 discussion</b> .....	50
<b>Reference</b> .....	51
<b>Acknowledge</b> .....	65

## 用酵母双杂交系统筛选与 APP/AID 相互作用蛋白的初步研究

### 第一章 前言

阿尔海默氏症 (Alzheimer Disease, AD) 是近年日趋严重的老年疾病之一, 它是痴呆最普遍的形式, 据估计在美国有 3 至 4 百万 65 岁以上的人患有此病<sup>[1]</sup>。AD 病人在记忆力、认知能力、语言、视觉和空间感觉方面都渐进性地遭到损害, 由此导致了日常生活不能自理, 基本上需要完全的看护。AD 给病人的家庭带来了沉重的经济负担并日益成为一个严重的社会问题<sup>[2]</sup>。

由于年龄是最重要的危险因素, 对绝大多数病例, AD 的病因仍然是不明朗的, 早期发生的 AD 与某些调节 ApoE、APP、PS1 和 PS2 的基因的突变有关。AD 一般具有四种特征: 1, 在脑区由 A $\beta$  (Amyloid  $\beta$ -peptide) 形成的淀粉样沉淀, 俗称老年斑; 2, 由 TAU 蛋白高度磷酸化引起的神经纤维缠结; 3, 神经细胞凋亡; 4, 神经递质缺失<sup>[3]</sup>。

#### 一、影响 AD 的几种重要因素

##### (一) 载脂蛋白 E (ApoE)

近年来的实验表明, 载脂蛋白 E (ApoE) 与 AD 具有密切的关系。ApoE 是一种血浆蛋白, 其分子量为 3, 400kDa, 其基因位于 19 号染色体上, 为单一基因的产物。ApoE 存在几种主要形式, 包括 ApoE2, ApoE3 和 ApoE4。其中 ApoE3 是最常见的亚型。ApoE4 由于会导致 A $\beta$  分泌过多, 因此被认为是 AD 的危险因子<sup>[4]</sup>。ApoE2 则导致 sAPP 分泌增加, 因而具有保护作用<sup>[5, 6]</sup>。ApoE4 等位基因的不同与零散的, 家族形式的 AD 有关, 一般在 65 岁后发生<sup>[7]</sup>。研究表明, 异聚体的 ApoE 等位基因可能与 A $\beta$  的清除或降解有关<sup>[8]</sup>。ApoE 在几种慢性神经退行性疾病中都有所增加, 并且神经细胞受损时, ApoE 合

成量可随之升高；特别是在 AD 中，这时的 ApoE 与细胞外的淀粉样斑块以及细胞内的神经纤维缠结相联系，它还能增加脑中淀粉样斑块的数量。已证明 ApoE 及从 ApoE 得到的 C 末端片断与 A $\beta$  高亲合性的结合，在淀粉样病变过程中，可能通过诱导或稳定淀粉样肽结构的  $\beta$  片层结构而促进纤维丝的形成。

## (二) 淀粉样前体蛋白 APP

APP 是 I 型跨膜蛋白，由于它的剪切能产生淀粉样斑块的核心蛋白 A $\beta$ ，所以它的剪切和代谢一直是 AD 研究的热点。APP 在脑和外周组织，如肌肉和上皮细胞中都有表达。它的基因定位于第 21 号染色体的长臂中间，含有 18 个外显子。APP 基因增强子具有持家基因增强子的特征，缺乏典型的 TATA 盒，但具有较高的 GC 含量。

人的 APP 基因经不同的 mRNA 剪切方式编码一系列的 APP 蛋白（695，714，751 和 770 个氨基酸）<sup>[9]</sup>，这些蛋白都有一个长的 N 端胞外序列，一个单一的跨膜区和一个短小的 C 端胞内区<sup>[10]</sup>。APP 的胞外区域可以被 $\alpha$ -分泌酶（ $\alpha$ -secretase）或  $\beta$ -分泌酶（ $\beta$ -secretase）切割，产生可以分泌到胞外的可溶性 N 端和仍然留在膜上的 C 端。这些分泌形式的 N 端可以参与细胞粘连、神经突生长和突触可塑性等活动<sup>[10-12]</sup>。而由 $\alpha$ -分泌酶或 $\beta$ -分泌酶切割形成的 C 端，由于切割的位点不同，形成不同大小和具有不同作用的短肽。 $\alpha$ -分泌酶主要在 A $\beta$  内部的第 17 位氨基酸切割，形成具有 83 个氨基酸的羧基端（C83）；而 $\beta$ -分泌酶主要在 A $\beta$  的第 1 位氨基酸切割，形成具有 99 个氨基酸的羧基端（C99）。C83 和 C99 在膜内由 $\gamma$ -分泌酶切割都可以产生 APP 胞内区（APP intracellular domain, AID），一般为 C57 和 C59。同时，C83 产生了一段短肽 P3，而 C99 则产生了 A $\beta_{39-43}$ （39—43 个氨基酸的多肽）（图 1）<sup>[13-16]</sup>。其中，A $\beta_{40}$  特别是 A $\beta_{42}$  容易在脆弱的脑区形成淀粉样沉淀<sup>[17]</sup>，是 AD 的病因之一。

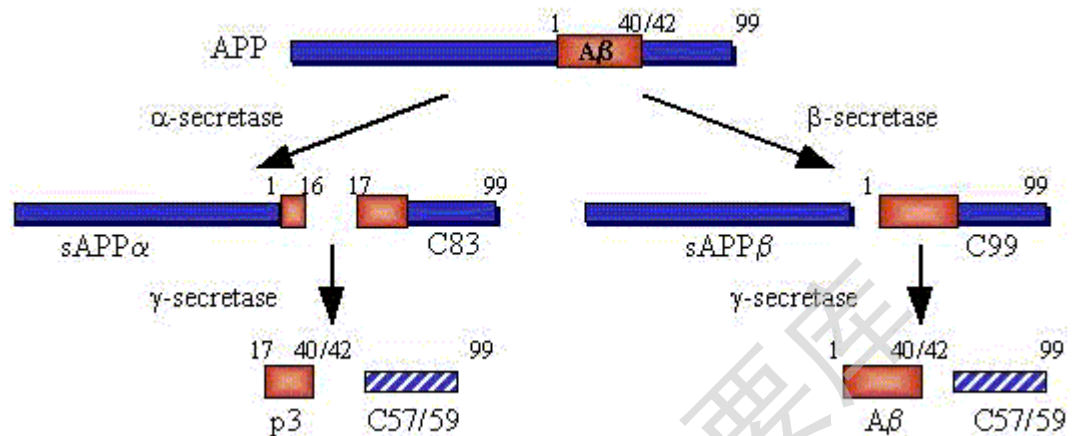


图 1 APP 的剪切

Fig 1. Cleavage of APP

(引自 <http://mail.med.upenn.edu/~skodanm/thesis>)

### (三) Tau 蛋白

神经纤维缠结是神经元内部由含 tau 蛋白的成对螺旋丝构成的沉淀。Tau 是在脑部广泛表达并与微管联系的一种磷蛋白质<sup>[18]</sup>。Tau 的作用是维持微管蛋白的稳定性<sup>[19]</sup>。在 AD 中, tau 高度磷酸化并且失去了与微管蛋白结合的能力, 破坏了细胞的运输并最终导致细胞的死亡<sup>[20]</sup>。Tau 蛋白与 A $\beta$  之间的联系并不十分清楚。研究表明, A $\beta$  在体外可以诱导 Tau 蛋白的磷酸化<sup>[21]</sup>, 并且 Tau 与 APP 之间存在相互作用<sup>[22]</sup>。最近在转基因老鼠的研究中发现淀粉样斑块的形成早于神经纤维缠结的形成<sup>[23]</sup>。这个发现更加强了 AD 的淀粉样沉淀假说, 并支持 A $\beta$  在 AD 形成中的中心作用。

### (四) $\beta$ 淀粉样蛋白—A $\beta$

A $\beta$  是 40—42 的多肽, 通常作为 APP 可溶性的代谢物产生<sup>[24]</sup>。在 AD 中, A $\beta$  在脑中以弥散紧密的斑块聚集并积累。弥散的斑块并不代表恶化, 但紧密的 A $\beta$  纤维与周围软组织的病变有关。与病变的发现一致, A $\beta$  纤维的形成在体外有神经毒害作用。A $\beta$  诱导神经毒性的确切机制并不清楚, 但是几

方面的证据都认为氧化压力和钙离子调节紊乱这两个原因起主要作用。

在细胞中  $A\beta$  增加了  $H_2O_2$  的水平 and 油脂过氧化物。 $H_2O_2$  降解酶可以保护细胞不受  $A\beta$  诱导的毒性作用<sup>[25]</sup>。 $A\beta$  也引起油脂过氧化物的形成并且产生对神经元有毒性的反应链烯如 hydroxynonenal (HNE) 和丙烯醛<sup>[26]</sup>。由  $A\beta$  引起的  $H_2O_2$  的产生是由于  $A\beta$  与金属铁和铜的相互作用<sup>[27]</sup>，它可以被金属的螯合作用(Huang et al., 1999a)所抑制。 $H_2O_2$  可以自由渗透通过所有的组织界限。它与还原的铜或铁反应以产生羟基分子，羟基分子反过来又在细胞的各个空间产生油脂过氧化反应加合物，蛋白羰基修正和核酸加合物。这样的脂类过氧化反应广泛存在，其氧化特性的损害揭示了 AD 的神经病理学<sup>[26, 28, 29]</sup>。

已经证明  $A\beta$  可以破坏神经元钙离子的动态平衡，通常导致细胞内钙离子的增加<sup>[30, 31]</sup>。持续增加的水平会损害线粒体的功能，改变细胞骨架和活化磷脂酶，蛋白酶和核酸内切酶，导致不可逆的膜、细胞器和染色质的损害并最终引起细胞死亡<sup>[32]</sup>。有证据表明  $A\beta$  可以形成钙离子通道，这个通道可以导致细胞钙离子的增加<sup>[33]</sup>。钙离子失调会产生自由的游离基，反之亦然。 $A\beta$  产生的氧化压力可以打破钙离子的动态平衡。 $H_2O_2$  和脂类过氧化物可以通过诱导经由硫醇氧化的钙离子内流使钙离子失调<sup>[34]</sup>。 $A\beta$  产生的氧化压力也反过来影响膜的离子驱动 ATP 酶和其它运输分子的功能，导致钙离子水平的升高<sup>[35]</sup>。通过抗氧化剂处理抑制脂类过氧化反应可以稳定钙离子的动态平衡并防止  $A\beta$  诱导的神经毒性<sup>[36]</sup>。除了它对神经的直接毒性作用， $A\beta$  也反过来影响神经胶质细胞，这在 AD 的退行性变化中起重要的作用。 $A\beta$  对轴突细胞是有毒性的<sup>[37]</sup>。神经胶质细胞产生髓磷脂鞘， $A\beta$  对轴突细胞的直接毒性作用可以影响髓磷脂鞘的完整性并且引起白质的功能紊乱。虽然  $A\beta$  对星形胶质细胞没有直接的毒性，但是它诱导细胞内钙离子的改变并耗损星形胶质细胞中的谷胱甘肽，因此导致神经细胞死亡<sup>[38]</sup>。

在 AD 大脑的恶化中炎症反应起了重要作用。聚合的  $A\beta$  是补体系统有

效的催化剂。充分激活的补体系统,通过其成分的多种相互作用,引导膜攻击复合体的形成,这种复合物易于把自己插入到外来细菌和病毒中;然而,如果宿主细胞被不适当地保护,这个过程也可以损害它们自己。虽然有证据表明活化的补体成分片断与 AD 大脑中的老年斑和纤维缠结有联系,并且补体蛋白的 mRNA 水平上调,但是并没有对抗膜攻击复合物的补体抑制物补偿性地上调来保护宿主细胞,而且似乎神经突越来越多地被补体自我攻击破坏,这种情形被称为“自动毒性”<sup>[39,40]</sup>。

根据许多体外 A $\beta$  的研究发现,炎症反应是 AD 大脑中的一个重要特征。神经炎斑块与反应的星形胶质细胞和小胶质细胞有关<sup>[41]</sup>。在 AD 大脑中,许多炎症细胞因子增加<sup>[42]</sup>。小胶质细胞遵循像老年斑,神经纤维缠结和氧化损伤一样的大脑区域变异模式。典型的细胞因子 IL-1 也在弥散斑块周围的小胶质细胞中大量表达<sup>[40]</sup>。就像硝基化蛋白水平增加一样<sup>[43]</sup>,也出现 iNOS 和 COX-2 水平的升高<sup>[44]</sup>,这是氮氧化物引起损伤的证据。所有这些发现都支持 AD 中炎症反应的作用。

### (五)影响 APP 切割的三种分泌酶

#### 1. $\alpha$ 分泌酶

$\alpha$  分泌酶是一种膜结合的水解酶,它在 A $\beta$  序列的中部水解 APP,其切割位点在  $\beta$  分泌酶和  $\gamma$  分泌酶切割位点之间。因此通过这种方式不可能形成任何 A $\beta$  分子。增强其活性可以有效地降低 A $\beta$  的产生。然而目前对  $\alpha$  分泌酶知之甚少,而且其活性的升高很可能会导致其他意料之外的症状。目前大家普遍接受铜与  $\alpha$  分泌酶具有相关性,Beyreuther 等最近描述了铜的竞争物能够通过  $\alpha$  分泌酶通路增强 APP 的代谢<sup>[45]</sup>。

#### 2. $\beta$ 分泌酶

$\beta$  分泌酶是 APP 的  $\beta$  位点裂解酶 ( $\beta$ -site APP cleavage enzyme, BACE),包括 BACE1 和 BACE2,其实质是一种新型的膜结合天冬氨酸蛋白酶。迄今已有大量关于 BACE 分离及其特征的研究。BACE2 是 BACE1 同源物,但

研究显示 BACE2 与 A $\beta$  生成似乎没有直接关系。尽管一些多肽类似物被认为是  $\beta$  分泌酶的抑制物,但目前尚无确切的临床  $\beta$  分泌酶抑制物的实验数据。如何长期抑制  $\beta$  分泌酶活性以控制 A $\beta$  分泌正是当前许多实验室的研究热点。

### 3. $\gamma$ 分泌酶

$\gamma$  分泌酶是阿尔海默氏症形成中至关重要的的一个切割酶。目前的研究表明  $\gamma$  分泌酶由 Presenilin (PS), Nicastrin (Nct), APH-1 和 Pen-2 四个因子构成<sup>[46]</sup>。

PS 是跨膜精氨酸蛋白酶<sup>[47]</sup>, 有 PS1 和 PS2 两种同源物, 相似性 67%, 切割 APP 和 Notch<sup>[48]</sup>。在哺乳类中 PS1 和 PS2 的功能有部分差异<sup>[49-51]</sup>。PS1 失活的小鼠致死, 表现部分 Notch 信号缺失的现象, 而 PS2 失活的小鼠正常。双缺失的小鼠早期胚胎致死, 表现出严重的 Notch 缺失表型<sup>[52]</sup>。PS1— $\gamma$  分泌酶比 PS2— $\gamma$  分泌酶有更高的特异活性。在野生型的膜中只有一小部分 PS1 (<14%) 似乎参与有活性的  $\gamma$  分泌酶, 表明 PS1 除了与  $\gamma$  分泌酶相关, 可能参与其它生物学功能。PS1— $\gamma$  分泌酶复合物和 PS2— $\gamma$  分泌酶复合物的独特而有重叠的酶特性暗示了这两个假定的精氨酸族蛋白酶可能有不同的生物学过程<sup>[50]</sup>。PS1 基因中常染色体区域突变遗传是家族性阿尔海默氏症的最普遍的原因<sup>[53, 54]</sup>。它们除了在 APP 处理过程中的调节, 也影响 Notch, Wnt/ $\beta$ -catenin 通路、凋亡、钙离子通道和 ErbB-4 介导的信号转导。而且, PS1 和 PS2 与线虫蛋白 sel-12 紧密相关, 而 sel-12 决定细胞命运<sup>[55]</sup>。

PS 首先以前体蛋白的形式合成, 然后整合成更大的复合物, 没有被整合入复合物的 PS 则被蛋白酶迅速降解。PS 的稳定还由一个未知的“早老素酶”的蛋白水解“成熟”切割伴随<sup>[56]</sup>。这样形成的氨基端(NTF, ~30kDa)和羧基端片断(CTF, ~20kDa)分别贡献了一个独立的氨基酸残基给催化位点。PS 被切割成仍保持联结的 N 端和 C 端片断, 这些异二聚物似乎是蛋白的生



Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库